



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Ciencias Biológicas
Escuela Académica Profesional de Microbiología y Parasitología

**Identificación de apoptosis en células THP-1 Y LLC-
MK2 inducida por antígenos de dos cepas de
Trypanosoma cruzi**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Biólogo, Microbiólogo
Parasitólogo

AUTOR

Henry Alonso PAICO MONTERO

ASESORES

Libertad ALZAMORA GONZALES

Manuela VERÁSTEGUI PIMENTEL

Lima, Perú

2015

RESUMEN

No existe una clara relación entre diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, con respecto a su virulencia y serología en el paciente. Se buscó esta relación a través de un ensayo de apoptosis, para ello la apoptosis fue evaluada cuantitativamente a 3, 6, 12 y 24 horas en células LLC-MK₂ y THP-1, ambas líneas celulares expuestas a 2 tipos de antígenos (Antígeno de excreción-secreción de tripanosoma o “TESA” y “LISIS” total o “LISIS”) de 2 cepas de *T. cruzi* proveniente de 2 países (Bolivia y Perú) comparado a una cepa estándar (Brasil) usando Zeocina como control positivo de apoptosis. Para la evaluación se usó kits para detectar Fosfatidilserina y Caspasa 3 (activa) confirmados por microscopía de fluorescencia.

Los ensayos de Anexina V mostraron que tanto los antígenos “TESA” y “LISIS” de Bolivia y de Perú indujeron más apoptosis que los antígenos “TESA” y “LISIS” de Brasil. Además, el antígeno “TESA” indujo más apoptosis que el antígeno “LISIS”. Los resultados de detección de caspasa 3 (activa) resultaron negativos en todas las cepas y tiempos ensayados. Esto sugiere que la virulencia de las cepas de *T. cruzi* se debe a una disminución o inhibición de la inducción de la apoptosis, por consiguiente ayuda a la persistencia de la infección y retarda la respuesta del sistema inmune del hospedero.

Palabras clave: Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, Apoptosis, Antígeno de excreción-secreción de tripanosoma, Antígeno de “LISIS” total, Anexina V, Caspasa-3, Apoptosis en tripanosomiasis.

ABSTRACT

Does not exist a clear relationship between the different strains of *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of Chagas' disease, with respect to the virulence and serology in the patient. We seek this relationship by an apoptosis assay, apoptosis was evaluated quantitatively at 3, 6, 9, 12 and 24 hours in LLC-MK₂ and THP-1 line cells exposed to 2 antigen types (Trypomastigote excreted-secreted antigens or "TESA" and total lysis or "LISIS") from two strains of *T. cruzi* from two countries (Bolivia and Peru) compared to standard strain (Brazil) using Zeocin as apoptosis positive control. We used 2 kits to detect Phosphatidylserine and Caspase-3 (active), confirmed by fluorescence microscopy.

Annexin V and cellular viability assays showed that both Bolivian and Peruvian strains "TESA" and "LISIS" antigens induced more apoptosis than Brazilian antigens. Furthermore, the "TESA" antigen induced more apoptosis than "LISIS" antigen. The caspase-3 active detection resulted negative in all strains and times assayed. This suggests that the virulence of the strains of *T. cruzi* is due to a reduction or inhibition of apoptosis induction, therefore aiding in the infection persistence and delaying the host immune response.

Keywords: Chagas' disease; *Trypanosoma cruzi*; Apoptosis; Tripomastigote excreted-secreted antigen; Total "LISIS" antigen; Annexin V; Caspase-3; Apoptosis in tripanosomiasis.